饲粮粗蛋白质水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性及转运载体 mRNA 表达的影响

张相鑫[1,2]　陈　澄[1,2]　唐志如[1,2]　甄吉福[1,2]　许庆庆[1,2]　孙志洪[1,2*]

（1.西南大学生物饲料与分子营养实验室，重庆 400715；2.西南大学动物科技学院，重庆 400715）

摘　要：本试验旨在研究饲粮粗蛋白质（CP）水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性及转运载体 mRNA 表达的影响。选用 28 日龄、体重[（7.0±0.5） kg]相近、健康的“杜×长×大”杂交断奶仔猪 54 头（公母各占 1/2），随机分为 3 组[20% CP 组（对照组）、17% CP 组和 14% CP 组]，每组 18 个重复，每个重复 1 头猪。预试期 7 d，正试期 45 d。正试期的第 10、25 和 45 天，分别从每组挑选 6 头仔猪进行屠宰。结果表明：1）试验第 10 天时，14%和 17% CP 组断奶仔猪的肝脏谷草转氨酶（GOT）活性显著低于对照组（$P<0.05$）；14% CP 组的肝脏谷氨酰胺合成酶（GS）活性显著低于其他 2 组（$P<0.05$）。第 25 天时，14% CP 组的肝脏 GOT 和 GS 活性显著低于对照组（$P<0.05$）；14%和 17% CP 组的肝脏谷丙转氨酶（GPT）和谷氨酸脱氢酶（GDH）活性显著低于对照组（$P<0.05$）。第 45 天时，14% CP 组的肝脏 GPT 和 GS 活性显著低于其他 2 组（$P<0.05$）。2）试验第 25 天时，14% CP 组断奶仔猪的肝脏可溶性载体 6 家族成员 15（*SLC6A15*）和可溶性载体 38 家族成员 2（*SLC38A2*）的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（$P<0.05$）；14%和 17% CP 组的肝脏可溶性载体 36 家族成员 1（*SLC36A1*）的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（$P<0.05$）。第 45 天时，14%和 17% CP 组的肝脏可溶性载体 6 家族成员 20（*SLC6A20*）和 *SLC38A2* 的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（$P<0.05$）；14% CP 组的肝脏 *SLC6A15* 的 mRNA 相对表达量显著低于其他 2 组（$P<0.05$）。由此可见，饲粮 CP 水平降低 3%和 6%可以降低断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶的活性及转运载体 mRNA 的相对表达量。

关键词：低蛋白质饲粮；仔猪；肝脏；氨基酸代谢酶；氨基酸转运载体

中图分类号：S828　　　　　　文献标识码：　　　　　　　文章编号：

近年来，随着集约化程度的提高，养殖业产生的氮污染越来越严重。我国每年生猪养殖所带来的氮排放量在 1 800 t 左右。因此，提高猪对蛋白质的利用效率，减少氮排放量，具

收稿日期：2017-10-18

基金项目：国家科技重大专项（2017YFD0500504）；国家重点基础研究发展计划（2013CB127304）；农业部“948”项目（2015Z74）

作者简介：张相鑫（1997—），男，河南洛阳人，硕士研究生，从事单胃动物营养研究。E-mail: 1342101406@qq.com

*通信作者：孙志洪，教授，硕士生导师，E-mail: sunzh2002cn@aliyun.com

有重要的科学和社会意义。目前，低蛋白质饲粮是降低猪氮排放量的通用技术。研究表明，降低 1%的猪饲粮粗蛋白质（crude protein，CP）水平可减少 8%左右的氮排放量[1]。在补充必需氨基酸的情况下，饲粮 CP 水平可以降低 2%～4%而不影响猪的生长发育[2]。课题组前期研究发现，降低饲粮 CP 水平，仅平衡重要的必需氨基酸（EAA）[赖氨酸（Lys）、蛋氨酸（Met）、色氨酸（Trp）和苏氨酸（Thr）]会显著增加 EAA 在肝脏组织中的消耗量[3]。本试验拟研究饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性及转运载体 mRNA 表达的影响，为阐明低蛋白质饲粮增加 EAA 在猪肝脏中的消耗量、减少氮排放的机制及如何提高断奶仔猪肝脏氨基酸代谢转化效率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计与试验饲粮

选用 28 日龄、体重[（7.0±0.5） kg]相近、健康的“杜×长×大”杂交断奶仔猪 54 头（公母各占 1/2），随机分为 3 组[20% CP 组（对照组）、17% CP 组和 14% CP 组]，每组 18 个重复，每个重复 1 头猪。17%和 14% CP 组添加 Lys、Met、Thr 和 Trp，使之水平与对照组一致。基础饲粮参照 NRC（2012）进行配制，试验饲粮组成及营养水平见表 1。

表 1 试验饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis) %

项目 Items	饲粮粗蛋白质水平 Dietary CP level/%		
	20	17	14
原料 Ingredients			
玉米 Corn	63.7	66.9	69.2
豆粕 Soybean meal	21.0	18.0	17.8
乳清粉 Whey powder	4.30	4.28	4.33
鱼粉 Fish meal	8.00	5.00	
大豆油 Soybean oil	0.70	2.50	4.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.10	0.60	1.35
石粉 Limestone	0.36	0.43	0.56
食盐 NaCl	0.30	0.30	0.30
赖氨酸 Lys	0.33	0.57	0.82
蛋氨酸 Met	0.09	0.17	0.27

苏氨酸 Thr	0.10	0.20	0.30
色氨酸 Trp	0.02	0.05	0.07
预混料 Premix[1)]	1.00	1.00	1.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[2)]			
消化能 DE/(MJ/kg)[2)]	14.60	14.60	14.60
粗蛋白质 CP	20.00	17.00	14.00
赖氨酸 Lys	1.23	1.23	1.23
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.68	0.68	0.68
苏氨酸 Thr	0.73	0.73	0.73
色氨酸 Trp	0.20	0.20	0.20
钙 Ca	0.69	0.71	0.70
总磷 TP	0.57	0.55	0.53
必需氨基酸/非必需氨基酸 EAA/NEAA	0.70	0.80	0.90

[1)] 预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：VA 10 500 IU，VD 4 500 IU，VE 5.4 IU，VK 0.9 mg，VB_6 4.6 mg，VB_{12} 0.016 mg，生物素 biotin 0.05 mg，叶酸 folic acid 0.29 mg，尼克酸 nicotinic acid 29.2 mg，泛酸 pantothenic acid 9.5 mg，胆碱 choline 0.45 g，核黄素 riboflavin 3.2 mg，硫胺素 thiamine 1.0 mg，Zn (as zinc sulfate) 86 mg，Fe (as ferrous sulfate) 97 mg，Mn (as manganese sulfate) 3.3 mg，Cu (as copper sulfate) 5.3 mg，I (as potassium iodide) 0.14 mg，Se (as sodium selenite) 0.265 mg。

[2)] 消化能为计算值，其余为实测值。DE was a calculated value, while the others were measured values.

1.2 饲养管理

试验在西南大学动物养殖基地进行。预试期 7 d，正试期 45 d。试验仔猪置于不锈钢笼（1.50 m×0.68 m×0.75 m）中进行饲养，每笼 1 头。养殖房温度控制在(25±1) ℃，试验仔猪均自由采食、饮水。每天于 08:00、18:00 进行饲喂。试验期间保持圈内清洁、干燥。

1.3 样品采集

试验期间，利用四分法采集各组饲粮 3 次，混合后粉碎过 40 目筛，常温保存。参照《饲料分析及饲料质量检测技术》[4]检测饲粮的干物质、CP、钙、磷、粗纤维和氨基酸等的含量。

于正试期的第 10 天、25 和 45 天，从每组挑选与平均体重最为接近的 6 头仔猪进行屠宰。采集肝脏样品，液氮冷冻后于–80 ℃保存。

1.4 检测指标

1.4.1 肝脏氨基酸代谢酶活性

称取 0.6~0.9 g 肝脏组织，放入预先添加 0.9%冷藏生理盐水的 10 mL 离心管中，肝脏重量与生理盐水体积比为 1:9，然后置于冰上匀浆。匀浆结束后在 3 000 r/min、4 ℃条件下离心 10 min，吸取上清液于–20 ℃保存，待测各种氨基酸代谢酶的活性。

比色法测定肝脏组织中谷丙转氨酶（glutamic-pyruvic transaminase，GPT）（C009-2）、谷草转氨酶（glutamic-oxalacetic transaminase，GOT）（C010-2）、谷氨酰胺合成酶（glutamine synthetase，GS）（A047）及谷氨酸脱氢酶（glutamic acid dehydrogenase，GDH）（A125）的活性，上述指标测定所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所，测定方法严格根据说明书进行。

1.4.2 肝脏氨基酸转运载体 mRNA 表达

1.4.2.1 RNA 提取及 cDNA 反转录

取–80 ℃保存的肝脏组织置于冰上，用已灭菌的剪刀将肝脏组织剪细，倒入液氮充分研磨（防止肝脏组织升温失活），待研磨均匀后将粉末状肝脏装入离心管内。用 Total RNA Extractor（上海生物工程有限公司）提取肝脏组织 mRNA，已提取的肝脏组织 mRNA 用 MMLV First Strand cDNA Synthesis Kit（上海生物工程有限公司）进行反转录得到 cDNA。

1.4.2.2 引物设计

采用 Primer Premier 5.0 软件进行引物设计，由上海生物工程有限公司合成。肝脏氨基酸转运载体可溶性载体 6 家族成员 15（solute carrier family 6 member 15，*SLC6A15*）、可溶性载体 6 家族成员 20（*SLC6A20*）、可溶性载体 36 家族成员 1（*SLC36A1*）、可溶性载体 38 家族成员 2（*SLC38A2*）及内参基因甘油醛–3–磷酸脱氢酶（*GAPDH*）的引物序列见表 2。

表 2 目的基因和内参基因的引物序列

Table 2 Primer sequences for target genes and reference gene

基因 Genes	产物长度 Product length/bp	引物序列 Primer sequences （5'—3'）	熔解温度 Melting temperature/℃
甘油醛–3–磷酸脱氢酶 *GAPDH*	149	F: GAAGGTCGGAGTGAACGGAT R: CATGGGTAGAATCATACTGGAACA	63

可溶性载体 6 家族成员 15 *SLC6A15*	140	F: GCTCAGGTGTTCTTTGCCTTA R: AGTGTTGCCAGGATGGAAGTA	60
可溶性载体 6 家族成员 20 *SLC6A20*	102	F: TGTCTGCCCACTGAATAGCA R: GGTGAGATGTTGAGGGTCTTG	59
可溶性载体 36 家族成员 1 *SLC36A1*	103	F: GGCATCTTCTTCACCTACGC R: GGTCTATCACCAGCCTCCAA	63
可溶性载体 38 家族成员 2 *SLC38A2*	126	F: AATCCTTGGGCTTTCTTATGC R:CCTCCTTCATTGGCAGTCTT	63

1.4.2.3 荧光定量 PCR

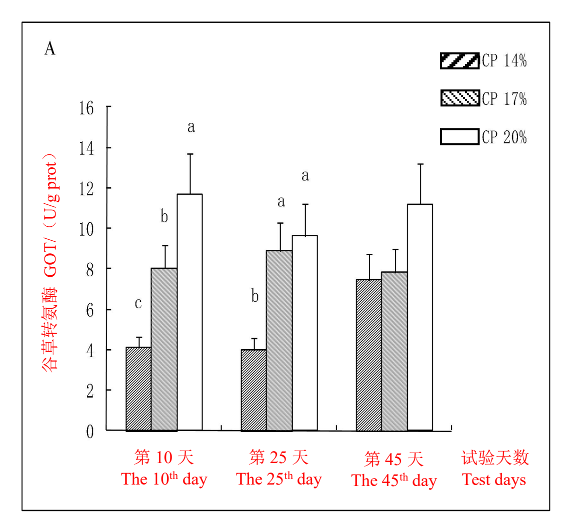
荧光定量 PCR 反应体系为 50 μL，其中包括 Hotstart Fluo-PCR mix 24 μL，上下游引物各 2 μL（25 μmol/L），cDNA 2 μL，ddH$_2$O 20 μL。荧光定量 PCR 反应条件：94 ℃预变性 4 min，94 ℃变性 30 s，60~63 ℃退火 30 s（根据引物最适温度而定），72 ℃延伸 30 s，共 35 个循环。反应试剂均购自上海生物工程有限公司。采用比较 Ct 法进行相对定量表达差异的计算，目的基因的相对表达量=$2^{-\Delta\Delta Ct}$，$\Delta\Delta Ct=(Ct_{目的基因}-Ct_{内参基因})_{试验组}-(Ct_{目的基因}-Ct_{内参基因})_{对照组}$，$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示试验组目的基因的表达量相对于对照组的变化倍数。

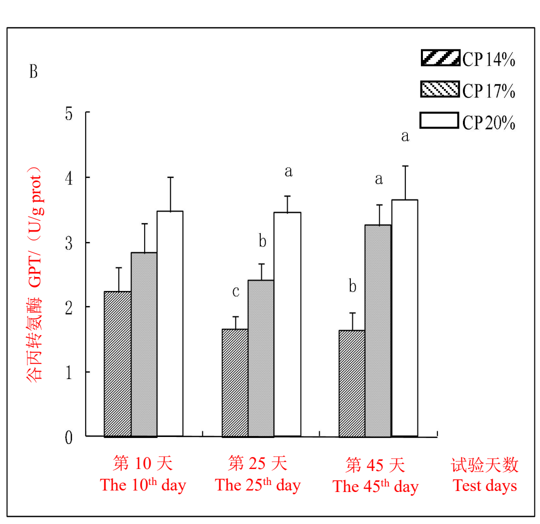
1.5 数据统计分析

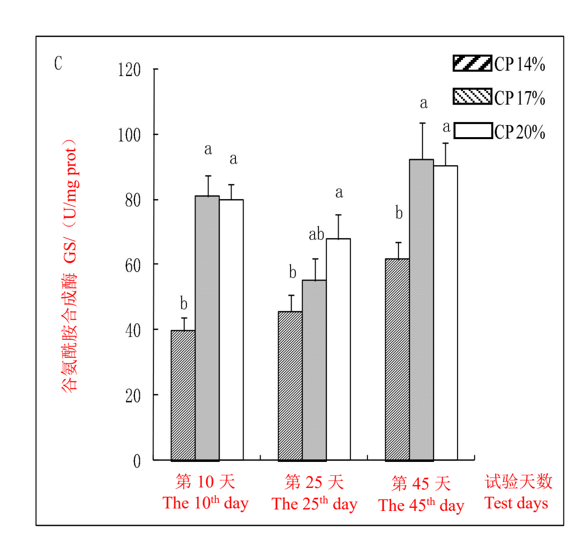
试验原始数据用 Excel 2007 进行整理，再使用 SAS 8.2 软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），LSD 法进行多重比较，结果以“平均值±标准误”表示。P<0.05 为差异显著。

2 结 果

2.1 饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性的影响







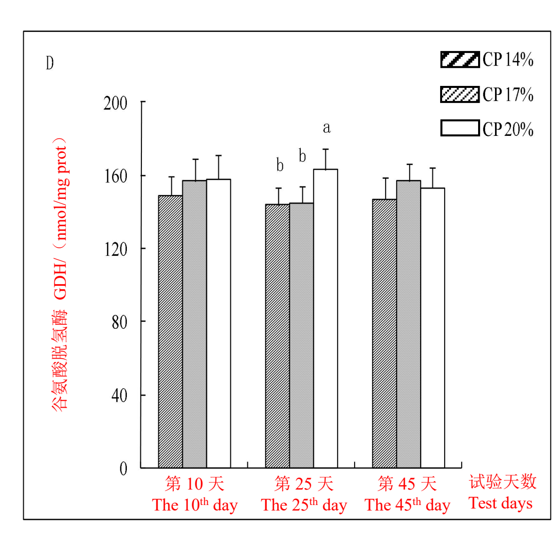


图 1　饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性的影响

Fig.1　Effects of dietary CP level on the activities of amino acid metabolic enzymes in liver of weaned piglets

由图 1 可知，试验第 10 天时，14%和 17% CP 组断奶仔猪的肝脏 GOT 活性显著低于对照组（*P*<0.05）；第 25 天时，14% CP 组的肝脏 GOT 活性显著低于其他 2 组（*P*<0.05）。第 25 天时，14%和 17% CP 组的 GPT 活性显著低于对照组（*P*<0.05）；第 45 天时，14% CP 组的肝脏 GPT 活性显著低于其他 2 组（*P*<0.05）。试验期第 10 和 45 天时，14% CP 组的肝脏 GS 活性显著低于其他 2 组（*P*<0.05）；第 25 天时，14% CP 组的肝脏 GS 活性显著低于对照组（*P*<0.05）。第 25 天时，14%和 17% CP 组的肝脏 GDH 活性显著低于对照组（*P*<0.05）。

2.2　断奶仔猪肝脏氨基酸转运载体 mRNA 表达

2.2.1　荧光定量 PCR 扩增曲线和溶解曲线分析

由图 2 可知，在 *GAPDH*、*SLC6A*15、*SLC6A*20、*SLC*36*A*1 及 *SLC*38*A*2 的扩增过程中，基线平稳，说明产生干扰的信号小。此外，扩增中设计的非模板对照（NTC）为平稳直线，说明试验过程中溶液没有污染和引物二聚体出现。

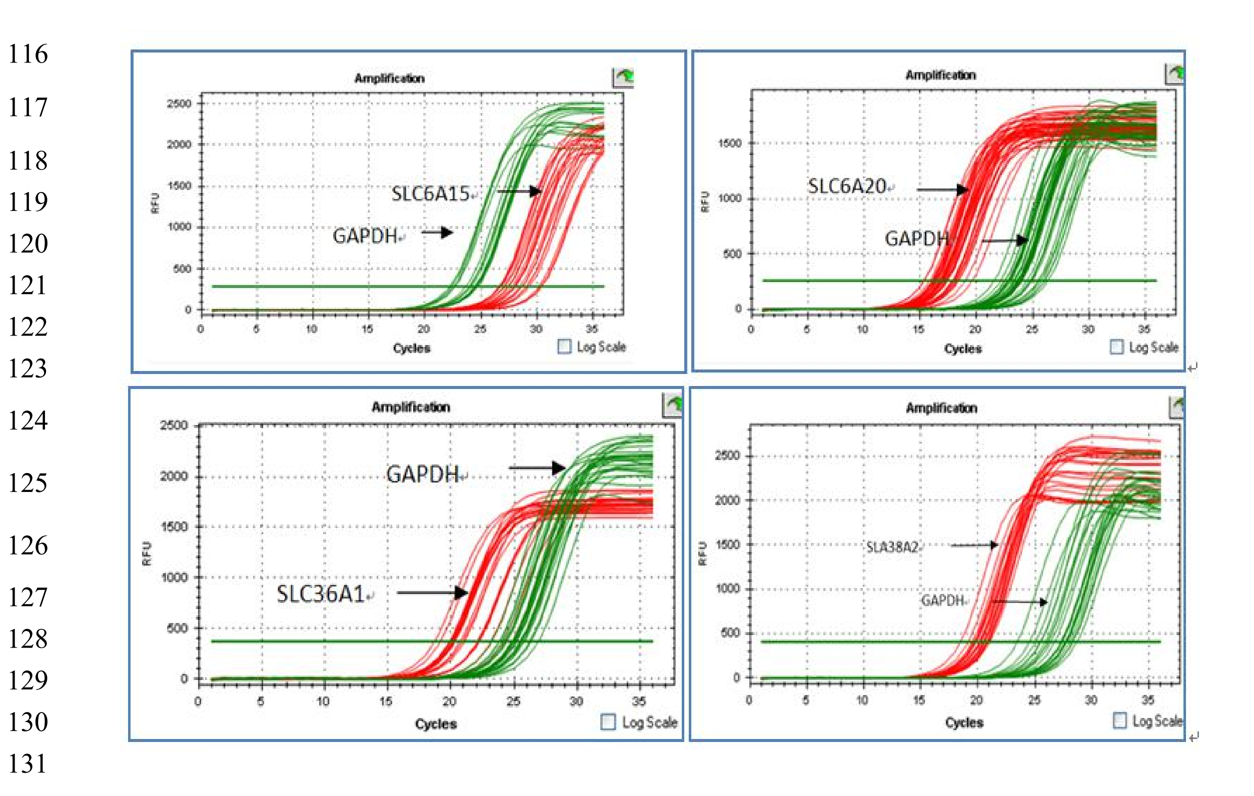


图 2　荧光定量 PCR 扩增曲线

Fig.2　Amplification curve of fluorescence quantitative PCR

由图 3 可知，在 *GAPDH*、*SLC6A*15、*SLC6A*20、*SLC*36*A*1 及 *SLC*38*A*2 的溶解曲线中均显示出一个单一尖锐峰，说明扩增过程中没有产生非特异性产物，引物特异性较好。

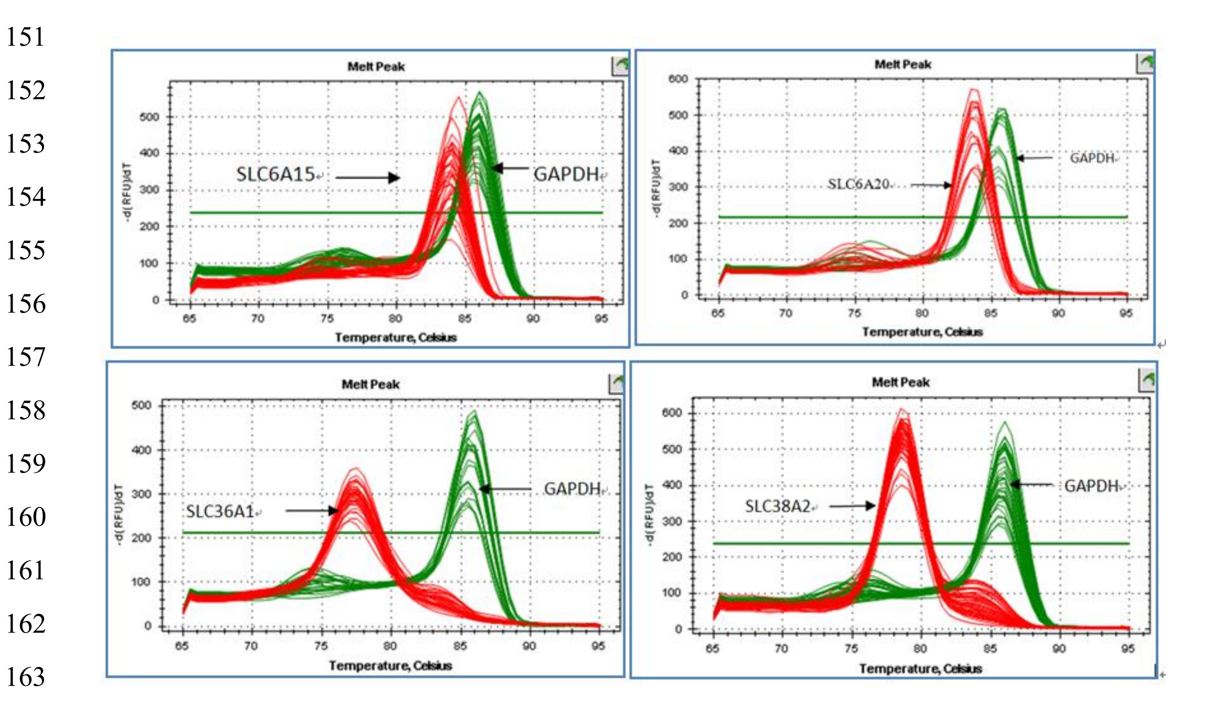


图 3　荧光定量 PCR 溶解曲线

Fig.3　Dissolution curve of fluorescent quantitative PCR

2.2.2　饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸转运载体 mRNA 表达的影响

由表 3 可知，试验第 25 和 45 天时，14% CP 组断奶仔猪的肝脏 *SLC6A15* 的 mRNA 相对表达量显著低于其他 2 组（P<0.05）；第 25 天时，14%和 17% CP 组的肝脏 *SLC36A1* 的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（P<0.05），14% CP 组的肝脏 *SLC38A2* 的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（P<0.05）；第 45 天时，14%和 17% CP 组的肝脏 *SLC6A20* 和 *SLC38A2* 的 mRNA 相对表达量显著低于对照组（P<0.05）。

表 3　饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸转运载体 mRNA 表达的影响

Table 3　Effects of dietary CP level on the mRNA expression of amino acid transporters in liver of weaned piglets

项目 Items	饲粮粗蛋白质水平 Dietary CP level/%			SEM	*P* 值 *P*-value
	20	17	14		
第 10 天 The 10th day					
可溶性载体 6 家族成员 15 *SLC6A15*	1.11	0.92	0.81	0.13	0.32
可溶性载体 6 家族成员 20 *SLC6A20*	1.51	1.20	1.12	0.29	0.23

可溶性载体 36 家族成员 1 *SLC36A1*	1.68	1.70	1.62	0.07	0.08
可溶性载体 38 家族成员 2 *SLC38A2*	1.59	1.57	1.21	0.33	0.17
第 25 天 The 25th day					
可溶性载体 6 家族成员 15 *SLC6A15*	1.07^{a}	1.07^{a}	0.76^{b}	0.08	<0.05
可溶性载体 6 家族成员 20 *SLC6A20*	1.61	1.41	1.07	0.19	0.19
可溶性载体 36 家族成员 1 *SLC36A1*	1.53^{a}	1.26^{b}	1.04^{c}	0.10	<0.05
可溶性载体 38 家族成员 2 *SLC38A2*	1.40^{a}	1.20^{ab}	1.11^{b}	0.12	<0.05
第 45 天 The 45th day					
可溶性载体 6 家族成员 15 *SLC6A15*	0.75^{a}	0.75^{a}	0.55^{b}	0.06	<0.05
可溶性载体 6 家族成员 20 *SLC6A20*	1.77^{a}	1.35^{b}	1.04^{c}	0.17	<0.05
可溶性载体 36 家族成员 1 *SLC36A1*	1.51	1.28	1.04	0.20	0.14
可溶性载体 38 家族成员 2 *SLC38A2*	1.50^{a}	1.19^{b}	0.97^{c}	0.05	<0.05

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著（P<0.05）。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05).

3 讨 论

3.1 饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶活性的影响

本试验结果显示，断奶仔猪肝脏 GOT 和 GPT 活性随饲粮 CP 水平的升高而增加。GOT 又称天门冬氨酸氨基转移酶，可以催化α-酮戊二酸（α-KG）和天冬氨酸（Asp）形成谷氨酸（Glu）和草酰乙酸。GPT 又名谷氨酸转氨酶，可以催化α-KG 和丙氨酸（Ala）形成 Glu 与丙酮酸。GOT 和 GPT 是氨基酸代谢转化过程中的重要酶，且在肝脏内活性较高。GOT 和 GPT 主要存在于细胞内，当组织细胞受到损害时，GOT 和 GPT 就会通过细胞流入血液，因此 GOT 和 GPT 是检验肝脏功能的一个重要指标[5]。有关饲粮 CP 水平对猪肝脏 GOT 和 GPT 活性影响的报道结果并不一致。罗钧秋[6]研究表明，当蛋白质营养供应不足时，会导致猪肝脏合成蛋白质的能力受到损伤，导致血浆 GOT 和 GPT 活性显著增加。罗洪明[7]报道认为，随饲粮 CP 水平的增加，仔猪血浆 GOT 和 GPT 活性呈先增加后下降再增加的趋势。从以上研究报道可以看出，判定 CP 水平对 GOT 和 GPT 活性的影响，需要明确饲粮 CP 水平处于何种状态（正常、过营养、缺乏），处于不同状态降低或增加相同水平的 CP 对机体 GOT 和 GPT 活性的影响是不同的。本研究表明，降低饲粮 CP 水平可能会减少仔猪肝脏中 Glu

的合成量。

本研究显示，降低饲粮 CP 水平会降低断奶仔猪肝脏 GS 和 GDH 活性。GS 是参与氨代谢的一种关键酶，存在于所有生物体内，催化 *L*-Glu 转化为谷氨酰胺（Gln）[8]。GS 在机体内具有重要的作用，不仅能够参与组织间氮的运输，降解体内高浓度的氨，而且还能够维持机体的酸碱平衡。GDH 广泛存在于肝脏组织中，在氨基酸氧化脱氨基反应过程中具有重要作用。一般情况下，GDH 可催化α–亚氨基戊二酸合成 Glu。此外，在氨基酸脱氨基反应过程中，GDH 能够和转氨酶形成 Gln 和天冬酰胺，并转化为尿素[9]。罗钧秋[6]研究报道，饲粮不同氨基酸组成对猪血浆 GDH 活性的影响不显著，结合本试验结果（降低饲粮 CP 水平会降低肝脏 GDH 和 GS 活性）可以推测，饲粮氨基酸的数量对肝脏 GDH 和 GS 活性具有重要影响。

3.2　饲粮 CP 水平对断奶仔猪肝脏氨基酸转运载体 mRNA 表达的影响

本研究结果显示，所检测的 4 种氨基酸转运载体的 mRNA 相对表达量均在不同程度上随饲粮 CP 水平的降低而降低。SLC6A15 是可溶性载体 6 家族（solute carrier family 6，SLC6）的成员之一，是一种结合 Na^+和 Cl^-的中性氨基酸转运载体。Uhl 等[10]于 1992 年发现了 SLC6A15，并依据其在 SLC6 的作用，将其命名为 SLC6A15、BoAT2、SBAT1 或 V7-3。Takanaga 等[11]研究证实，SLC6A15 可以调节脯氨酸（Pro）、Met、亮氨酸（Leu）、缬氨酸（Val）和异亮氨酸（Ile）的代谢转化。Hägglund 等[12]研究发现，SLC6A15 可以改变 Leu 的浓度，从而调节机体器官内的能量代谢。Drgonova 等[13]研究表明，敲除小鼠的 *SLC6A*15 基因导致 Leu 和 Pro 摄取量分别下降 40%和 15%。Hägglund 等[14]研究发现，*SLC6A*15 的 mRNA 表达主要在大脑，在肌肉、肠道、肝脏和眼睛中也能检测到部分 *SLC6A*15 的 mRNA 表达。

SLC6A20 又名 SIT1，是一种结合 Na^+和 Cl^-的氨基酸转运载体。SLC6A20 主要分布于哺乳动物的肠道和肾脏中，是 Pro 代谢过程中的重要成分，其通过结合 Glu、精氨酸（Arg）和其他氨基酸而影响机体的糖稳态和能量稳态[15-16]。研究发现，SLC6A20 在肾脏中可调节Ⅱ型糖尿病[17]。此外，亚氨基甘氨酸尿症与 *SLC6A*20 的突变也存在一定的联系[18]。由于 SLC6A20 发现的比较晚，目前关于其在肝脏中的调节机制报道较少。

*SLC*36*A*1 又名 *PAT*1，是一种编码质子结合氨基酸的转运载体，其主要分布于肠道和肾脏中，在肝脏中也有少量的 mRNA 表达[15]。SLC36A1 能够转运机体内 Ala、Pro、甘氨酸（Gly）等各类小氨基酸。在一定 H^+浓度条件下，SLC36A1 选择性激活 Na^+/H^+交换体Ⅲ产生亚氨基酸，从而使机体内 H^+浓度维持在正常水平[19]。Chen 等[20]研究发现，*SLC*36*A*1 在人体的小肠、大脑、肝脏、睾丸和肾脏组织中均有表达。

SLC38A2 是 SLC6 家族成员之一，它是一种 Na^+依赖的中性氨基酸转运载体，存在于哺乳动物组织中。*SLC38A2* 几乎在所有细胞类型中都能表达[21]。Ortiz 等[22]研究发现，给大鼠饲喂高蛋白质饲粮可以增加 *SLC38A2* 的表达，这表明 SLC38A2 能够将机体内多余蛋白质通过氨基酸的形式进行氧化分解。Conti 等[23]研究表明，SLC38A2 能够结合 Gln 进入细胞内，并参与 Glu-Gln 代谢循环。本试验研究发现，断奶仔猪肝脏 *SLC38A2* 的 mRNA 相对表达量随饲粮 CP 水平的增加而增加，这与 Ortiz 等[22]的研究结果相一致。

仔猪肝脏氨基酸转运载体的 mRNA 相对表达量随饲粮 CP 水平的变化趋势与氨基酸代谢酶活性的变化趋势一致。总体来看，降低饲粮 CP 水平 3%和 6%会减少某些氨基酸（如 Glu、Pro、Arg、Leu 等）进入肝细胞的数量，从而降低这些氨基酸在肝脏中的代谢速率。

4 结 论

① 饲粮 CP 水平降低 3%和 6%会显著降低断奶仔猪肝脏氨基酸代谢酶（GOT、GPT、GS、GDH）活性。

② 饲粮 CP 水平降低 3%和 6%会显著降低断奶仔猪肝脏氨基酸转运载体（*SLC6A15*、*SLC6A20*、*SLC36A1*、*SLC38A2*）的 mRNA 相对表达量。

参考文献：

[1] KERR B J,EASTER R A.Effect of feeding reduced protein,amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs[J].Journal of Animal Science,1995,73(10):3000–3008.

[2] LE BELLEGO L,VAN MILGEN J,NOBLET J.Effect of high temperature and low-protein diets on the performance of growing-finishing pigs[J].Journal of Animal Science,2002,80(3):691–701.

[3] 陈澄.日粮蛋白水平对仔猪肝脏氨基酸代谢转化的影响研究[D].硕士学位论文.重庆:西南大学,2015:21–24.

[4] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].3 版.北京:中国农业大学出版社,2007.

[5] 邹思湘.动物生物化学[M].5 版.北京:中国农业出版社,2008.

[6] 罗钧秋.猪饲粮不同来源蛋白质营养代谢效应的比较研究[D].博士学位论文.雅安:四川农业大学,2011.

[7] 罗洪明.饲粮不同蛋白水平对早期断奶仔猪生产性能、血液生化指标及免疫机能的影响[D]硕士学位论文.四川:四川农业大学,2005.

[8] SHAKED I,BEN-DROR I,VARDIMON L.Glutamine synthetase enhances the clearance of

extracellular glutamate by the neural retina[J].Neurochem,2002,83(3):574–580.
[9] 李招权,魏明竟.血清谷氨酸脱氢酶的检测及临床意义[J].国外医学临床生物化学与检验学分册,2001,22(4):209–210.
[10] UHL G R,KITAYAMA S,GREGOR P,et al.Neurotransmitter transporter family cDNAs in a rat midbrain library:'orphan transporters' suggest sizable structural variations[J].Molecular Brain Research,1992,16(3/4):353–359.
[11] TAKANAGA H,MACKENZIE B,PENG J B,et al.Characterization of a branched-chain amino-acid transporter *SBAT*1 (*SLC6A*15) that is expressed in human brain[J].Biochemical and Biophysical Research Communications,2005,337(3):892–900.
[12] HÄGGLUND M G A,ROSHANBIN S,LÖFQVIST E,et al.B0AT2 (SLC6A15) is localized to neurons and astrocytes,and is involved in mediating the effect of leucine in the brain[J].PLoS One,2013,8(3):58651.
[13] DRGONOVA J,LIU Q R,HALL F S,et al.Deletion of v7–3 (SLC6A15)transporter allows assessment of its roles in synaptosomal proline uptake,leucine uptake and behaviors[J].Brain Research,2007,1183:10–20.
[14] HÄGGLUND M G A,HELLSTEN S V,BAGCHI S B,et al.Characterization of the transporter B0AT3 (SLC6A17) in the rodent central nervous system[J].BMC Neuroscience,2013,14:54.
[15] TAKANAGA H,MACKENZIE B,SUZUKI Y,et al.Identification of mammalian proline transporter SIT1 (SLC6A20) with characteristics of classical system imino[J].The Journal of Biological Chemistry,2005,280(10):8974–8984.
[16] JOBGEN W S,FRIED S K,FU W J,et al.Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates[J].Journal of Nutritional Biochemistry,2006,17(9):571–588.
[17] PATTERSON A D,BONZO J A,LI F,et al.Metabolomics reveals attenuation of the SLC6A20 kidney transporter in nonhuman primate and mouse models of type 2 diabetes mellitus[J].Molecular Bases of Disease,2011,286(22):19511–19522.
[18] BRÖER S,BAILEY C G,KOWALCZUK S,et al.Iminoglycinuria and hyperglycinuria are discrete human phenotypes resulting from complex mutations in proline and glycine transporters[J].Journal of Clinical Invertigation,2008,118(12):3881–3892.

[19] ANDERSON C M H,THWAITES D T.Indirect regulation of the intestinal H^+-coupled amino acid transporter hPAT1 (SLC36A1)[J].Journal of Cellular Physiology,2005,204(2):604–613.

[20] CHEN P E,GEBALLE M T,STANSFELD P J,et al.Structural features of the glutamate binding site in recombinant NR1/NR2A N-methyl-D-aspartate receptors determined by site-directed mutagenesis and molecular modeling[J].Molecular Pharmacology,2005,67(5):1470–1484.

[21] YAO D D,MACKENZIE B,MING H,et al.A novel system A isoform mediating Na^+/neutral amino acid cotransport[J].The Journal of Biological Chemistry,2000,275(30):22790–22797.

[22] ORTIZ V,ALEM N G,ESCAMILLA-DEL-ARENAL M,et al.Promoter characterization and role of CRE in the basal transcription of the rat *SNAT*2 gene[J].American Journal of Physiology,2011,300(6):E1092–E1102.

[23] CONTI F,MELONE M.The glutamine commute:lost in the tube?[J].Neurochemistry International,2006,48(6/7):459–464.

Effects of Dietary Crude Protein Level on Activities of Amino Acid Metabolic Enzymes and mRNA Expression of Amino Acid Transporters in Liver of Weaned Piglets

ZHANG Xiangxin[1,2] CHEN Cheng[1,2] TANG Zhiru[1,2] ZHEN Jifu[1,2] XU Qingqing[1,2] SUN Zhihong[1,2*]

（1. *Laboratory of Bio-Feed and Molecular Nutrition*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*; 2. *College of Animal Science and Technology*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*）

Abstract: The aim of this study was to determine the effects of dietary crude protein (CP) level on activities of amino acid metabolic enzymes and mRNA expression of amino acid transporters in liver of weaned piglets. Fifty-four 28-days-old healthy “Duroc×Landrace×Yorkshire” hybrid weaned piglets (males and females in half) with the similar body weight [(7.0±0.5) kg] were randomly allotted to 3 groups [20.0% CP group (control group), 17.0% CP group and 14.0% CP group], and 18 replicates per group and 1 pig per replicate. The pre-trial lasted for 7 days, and the

*Corresponding author, professor, E-mail: sunzh2002cn@aliyun.com (责任编辑 李慧英)

trial lasted for 45 days. Six piglets were selected from each group and slaughtered at the 10th day, the 25th day and the 45th day, respectively. The results showed as follows: 1) at the 10th day, the activity of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) in liver of weaned piglets in groups 14% and 17% CP was significantly lower than that in control group ($P<0.05$), and the activity of glutamine synthetase (GS) in liver in group 14% CP was significantly lower than that in the other 2 group ($P<0.05$). At the 25th day, the activities of GOT and GS in liver in group 14% CP were significantly lower than those in control group ($P<0.05$), and the activities of glutamic-pyruvic transaminase (GPT) and glutamic acid dehydrogenase (GDH) in liver in groups 14% and 17% CP were significantly lower than those in control group ($P<0.05$). At the 45th day, the activities of GPT and GS in liver in group 14% CP were significantly lower than those in the other 2 groups ($P<0.05$). 2) At 25th day, the mRNA relative expressions of solute carrier family 6 member 15 (*SLC*6*A*15) and solute carrier family 38 member 2 (*SLC*38*A*2) in liver of weaned piglets in group 14% CP were significantly lower than those in control group ($P<0.05$), and the mRNA relative expression of solute carrier family 36 member 1 (*SLC*36*A*1) in liver in groups 14% and 17% CP was significantly lower than that in control group ($P<0.05$). At 45th day, the mRNA relative expressions of solute carrier family 6 member 20 (*SLC*6*A*20) and *SLC*38*A*2 in liver in groups 14% and 17% CP were significantly lower than those in control group ($P<0.05$), and the mRNA relative expression of *SLC*6*A*15 in liver in group 14% CP was significantly lower than that in the other 2 group ($P<0.05$). In conclusion, reducing dietary CP level by 3% and 6% can reduce the activities of amino acid metabolic enzymes and the mRNA relative expressions of amino acid transporters in liver of weaned piglets.

Key words: low-protein diets; piglets; liver; amino acid metabolic enzyme; amino acid transporter